Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie. Berlin-Dahlem
Leitender Direktor: Prof. Dr. C. Neuberg

Untersuchungen über das chemische und enzymatische Verhalten einiger natürlich vorkommender Glukuronsäureverbindungen

Mit einem Anhang:

Über die Zucker der Frauenmilch.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt

der Philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin.

Von

Felix Bergmann

aus Frankfurt/Oder

Tag der Promotion: 14. Oktober 1933.

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juli 1933.

Druck: Paul Brandel, Berlin N 24

590

Gedruckt mit Genehmigung
der
Philosophischen Fakultät der Universität Berlin
Referent: Prof. Dr. C. Neuberg
Korreferent: Hofrat Prof. Dr. W. Schlenck

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinem Bruder, Privatdozenten Dr. Ernst Bergmann,

in Dankbarkeit gewidmet.

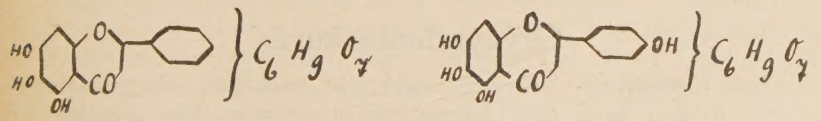
Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41533918_0134

I.

Enzymatisches Verhalten von Glucuronsäurederivaten.

Während das Verhalten von Heterosiden der Pentosen und Hexosen gegenüber Hydrolasen in den letzten Jahren eingehend studiert worden ist, ist über das enzymchemische Verhalten der Glukuronide nur wenig bekannt. Und doch besitzt dieses Problem über die reine Fermentchemie hinaus auch eine gewisse biologische Bedeutung. Es ist nicht nur wichtig zu wissen, inwieweit Glukuronide als Substrate für die bekannten Glukosidasen auftreten können oder ihre Spaltung spezifische Enzyme benötigt, sondern das Auftreten gepaarter Glukuronsäuren als Stoffwechselprodukte legt die Frage nach ihrer Entstehung nahe: Findet eine Kondensation des Aglukons mit vorgebildeter Glukuronsäure statt oder werden primär gebildete, normale Glukoside nachträglich oxydiert? Letztere Auffassung wird beispielsweise nahegelegt durch die Beobachtung von Hürthle[1]), daß per os verabreichte Glukuronsäure im Harn unverändert wieder ausgeschieden wird, also nicht zur „Paarung" benutzt wird. Eine Vertiefung des Problems kann man von Spaltungsversuchen an Glukuroniden mit α- oder β-Glukosidasen erhoffen. Darüber liegt relativ wenig Material vor, und bis jetzt ließen sich keine Gesetzmäßigkeiten feststellen. So wurde beispielsweise gefunden, daß die Glukuronide des Phenols, Euxanthins, Syringins und Vanillins[2]) durch Emulsin gespalten werden, nicht aber die des Resorcins, Phloroglucins, Orcins u. ä. Bezüglich zweier Farbstoffglukuronide, des Baikalins und Scutellarins, denen die Formeln



zukommen, ist festgestellt worden[3]), daß sie von einem Enzym — der Baicalinase — gespalten werden können, das in der Wurzel ihrer Stammpflanze, scutellaria baicalensis, vorkommt. Gegen alle sonst noch untersuchten Fermente sind die beiden Farbstoffe völlig resistent. Ich selbst

[1]) Bio. Z., 181, 105 (1927).
[2]) Sera, H. 88, 460 (1923); H. 90, 258 (1914), vgl. ferner H. 44, 114 (1904) u. Soc. 1931, 1709.
[3]) Miwa, Acta phytochim. VI, 155 (1932).

habe die β-Naphtolglukuronsäure[4]) eingehend auf ihre Spaltbarkeit geprüft, eine Verbindung, die ich aus dem Harn von Kaninchen nach Fütterung mit β-Naphtol isolierte. Auch nicht mit einem einzigen der nachstehend angeführten Fermente gelang mir eine Spaltung: 1. Emulsin, das gebräuchlichste, β-glukosidatische Ferment. 2. Takadiastase, die bei Salicin oder Amygdalin bekanntlich sehr starke Wirksamkeit entfaltet. 3. Extrakt von Aspergillus niger, der sich auch gegen seltenere, β-glukosidische Bindungen (Bionsäuren) u. ä.) als wirksam erwiesen hat[5]). 4. Aus demselben Grunde wurde auch Sacharomyces fragilis[6]) versucht. 5. Extrakt aus scutell. baic., der nach der japanischen Vorschrift hergestellt wurde, und 6. ein in analoger Weise gewonnener Fermentsaft aus Glycyrrhiza glabra. Da in fast allen Fällen die Wirksamkeit der verwandten Präparate an geeigneten Substraten sicher gestellt ist, scheint mir die Behauptung gut begründet zu sein, daß β-Naphtolglukuronid durch die bisher untersuchten Fermente nicht spaltbar ist. Dieser Befund steht im Gegensatz zu den oben erwähnten Literaturangaben über Phenolglukuronsäure. Bisher ist nur selten eine so weitgehend ausgeprägte Abhängigkeit der Spaltbarkeit von der Natur des Aglukons bekannt, daß eine Phenylverbindung auf ein Ferment anspricht, die entsprechende Naphtylverbindung hingegen nicht. Das Studium der Literatur zeigt nun aber, daß — mit einer einzigen, gleich zu besprechenden Ausnahme — in keinem Falle nach der Spaltung die Uronsäure in Substanz isoliert wurde; man hat stets nur aus der Drehungsänderung und der Reduktionskraft der Endlösungen auf die Bildung freier Glukuronsäure geschlossen. Die einzige Ausnahme bildet das Baicalin, nach dessen Spaltung Miwa die Glukuronsäure als Cinchoninsalz isolieren konnte. Dabei handelte es sich jedoch um ein pflanzliches Produkt, und es erscheint durchaus möglich, daß die Pflanze aus Uronsäure und Aglukon direkt Uronide aufbauen kann und daher auch das hydrolysierende Enzym besitzt. Überdies ist bei pflanzlichen Fermentsystemen eine viel größere Spezifität bekannt als bei tierischen, wie besonders Erfahrungen bei der Spaltung von Farbstoffglukosiden[7]) lehren.

II.

Glycyrrhizinsäure.

Diese Überlegungen ließen es angebracht erscheinen, ein pflanzliches Produkt in den Kreis der Untersuchungen einzubeziehen, nämlich die Glycyrrhizinsäure (abgek. Rhizinsäure). Dabei spielte zugleich die Hoffnung mit, hier von einem beliebig verfügbaren, pflanzlichen Ausgangsmaterial auf einem präparativ gangbaren Weg zu der sonst schwer zu-

[4]) Lesnick u. Nencki, B 19, 1534 (1886).
[5]) Bourquelot u. Herissey, C. r. 137, 56 (1903).
[6]) Neuberg u. Hofmann, Bio. Z. 256, 450 (1932).
[7]) Vgl. dazu vor allem das in dem Buch von van Rijn und Dieterle, Die Glukoside, gesammelte Material.

gänglichen Glukuronsäure zu gelangen. Die Untersuchung der Rhizinsäure und des Aglukons in ihr, der Glycyrrhetinsäure (abgek. Rhetinsäure), bildet daher den Hauptteil der vorliegenden Arbeit.

Zunächst bei bemerkt, daß es mir gelang, die Darstellung des Ammoniumrhizinats, für die Vorschriften von Tschirch[8]) und Karrer[9]) vorliegen, sehr zu vereinfachen. Die Isolierung bereitet deswegen Schwierigkeiten, weil ähnlich anderen gepaarten Glukuronsäuren hier eigenartige Löslichkeitsverhältnisse vorliegen, und vor allem, weil Neigung zur Gallertenbildung besteht. Ich fand im Eisessig ein Solvens, das alle Schwierigkeiten überwindet. Wenn man den Extrakt aus Süßholzwurzel, das Glycyrrhizinum ammoniacale Merck, eine schwarze, harzähnlich erstarrte Masse in die anderhalbfache Menge siedenden Eisessigs unter mechanischem Rühren portionenweise einträgt, so erhält man in einer einzigen Operation fast reines Ammoniumsalz. Dieses kristallisiert bei mehrtägigem Aufbewahren im Eisschrank zu ca. 10% des Ausgangsmaterials aus. (Wenn nach 24 h noch keine Kristalle sichtbar sind, empfiehlt es sich, anzuimpfen.) Mehrmaliges Umkristallisieren aus Eisessig oder verdünntem Alkohol liefert ein analysenreines Produkt. Bei der Spaltung der Rhizinsäure habe ich folgendes festgestellt: Ein Extrakt aus frischer Süßholzwurzel liefert kein spaltendes Ferment, auch die β-glukosidasehaltigen Lösungen aus scutellaria baic. und Sacharomyces frag. waren unwirksam. Eine Erklärung für die Resistenz dieses natürlich vorkommenden Glukuronides schien sich mir durch die Beobachtung zu ergeben, daß die essigsaure Lösung der Rhizinsäure rechtsdrehend ist. (Die Angabe von Tschirch über optische Inaktivität trifft also nicht zu.) Diese für gepaarte Glukuronsäuren ganz ungewöhnliche Rechtsdrehung ließ eine Zeitlang die Vermutung aufkommen, daß bei der Rhizinsäure α-glukosidische Bindung vorläge. (Die beiden, in der Literatur bekannten, rechtsdrehenden Uronsäuren, Benzoëglukuronsäure und Dimethylaminobenzoëglukuronsäure[10]) haben eine von der gewöhnlichen abweichende Struktur und kommen daher für einen Vergleich nicht in Betracht.) Daher wurde die Spaltung mit Maltase versucht, aber ohne Erfolg. Eine Erklärung für das optische Verhalten der Rhizinsäure ergab die bisher überraschenderweise auch nicht gemachte Feststellung, daß Rhetinsäure äußerst stark rechts dreht, wodurch die Linksdrehung der β-Glukosidbindung überkompensiert werden könnte. Diese Feststellungen veranlaßten eine eingehendere Untersuchung der Rhizinsäure und ihres Aglukons.

Für die Rhetinsäure hat sich, wie weiter unten begründet wird, die Formel $C_{23}H_{36}O_3$ ergeben. Bezüglich der Rhizinsäure stimmen die Analysen von Tschirch und Karrer gut überein; auch eigene analytische Bestimmungen sichern die Formel eines übersauren Salzes.

---

[8]) Arch. Pharm. 245, II, 97 (1907).
[9]) Helv. 4, 100 (1921).
[10]) Magnus-Levy, Bio. Z. 6, 502 (1907).
Jaffe, H. 43, 374 (1904).

Tschirch erteilte der Säure die Formel $C_{44}H_{64}O_{19}$ (während Karrer sich vorläufig der Aufstellung einer Summenformel enthält.) Diese Auffassung ist nicht haltbar, weil die Angaben über die Rhetinsäure, die ihr zu Grunde liegen, nicht richtig sind. Vielmehr kommt der Rhizinsäure die Formel $C_{30}H_{48}O_{13}$, ihren übersauren Salzen die Formel $C_{30}H_{48}O_{13}C_{30}H_{47}O_{13}Me$ zu. Ein Vergleich mit der Rhetinsäure zeigt, daß man nicht durch Kombination dieser mit Uronsäure zur Rhizinsäureformel kommt. Die Spaltung der Rhizinsäure in diese Bruchstücke müßte vielmehr noch von einer Abspaltung von CO_2 und H_2O begleitet sein. Man kann also zu der Vermutung kommen, daß, im Gegensatz zu den recht bestimmt gehaltenen Aussagen von Tschirch, die Zuckerkomponente nicht einfach Glukuronsäure ist. Es gelang mir nie, diese direkt zu isolieren. Daher habe ich noch eine empfindlichere Isolierungsmethode ausgearbeitet, nämlich die Fällung als 2,4-Dinitrophenylhydrazon, die noch die Identifizierung von 0,1 g Uronsäure mit Leichtigkeit gestattet. Aber auch auf diesem Wege konnte ich keine Glukuronsäure fassen. Feststehend ist nur die Tatsache (nach saurem Charakter, Reduktionsvermögen und Naphtoresorcinreaktion*), daß eine Uronsäure entsteht. Der negative Ausfall aller Isolierungsversuche deutet auf eine Komplikation der Verhältnisse hin.

III.

Rhetinsäure.

Über die Rhetinsäure ist bisher folgendes bekannt: Tschirch hat die Formel $C_{32}H_{48}O_7$ aufgestellt. Er hielt die Verbindung für eine Monocarbonsäure mit zwei Gruppen und stützte diese Auffassung durch Darstellung einer Diacetylverbindung vom Schmelzpunkt F = 210° (?) und durch Titration der Säure. Die Zinkstaubdestillation lieferte Naphtalin (in einem Gemisch anderer Kohlenwasserstoffe), ein Befund, der der vorläufigen Strukturformel der Rhetinsäure zu Grunde gelegt wurde. Nach Karrer und seinen Mitarbeitern besitzt die Rhetinsäure die Formel $C_{45}H_{72}O_6$. Auch diese Autoren hielten die Verbindung für eine Dioxymonocarbonsäure; sie lösten also die Formel auf in $C_{44}H_{69}O_2\left\{\begin{matrix}OH\\OH\\COOH\end{matrix}\right.$.

Dafür werden folgende Argumente beigebracht:

1. Die Analyse ergibt im Mittel C = 76,2 %; H = 10,2 %.
2. Das Molekulargewicht wird geschlossen
   a) Aus ebullioskopischer Messung an der alkoholischen Lösung der freien Säure beziehungsweise ihres Methylesters.
   b) Durch Titration gegen Phenolphtalein;

*) Immerhin ist die Vieldeutigkeit dieser Farbreaktion zu bedenken, während die Furfurolbildung zu Gunsten einer Carboxypentose spricht.

c) Durch Bestimmung des Verseifungsäquivalentes des Methylesters.

3. Die Anwesenheit der COOH-Gruppe wird durch Esterifizierung mit Diazomethan bewiesen.

4. Die Anwesenheit zweier OH-Gruppen durch Acetylierung (keine Angabe des Schmelzpunktes).

Endlich hat noch Ruzicka[11]) einen Beitrag zur Konstitutionsaufklärung geliefert; durch Dehydrierung mit Selen erhielt er in sehr geringer Ausbeute Sapotalin = 1, 2, 7-Trimethylnaphtalin neben anderen Produkten.

Meine eigenen Versuche, über die ich nun berichten will, führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Rhetinsäure besitzt starke Rechtsdrehung $[\alpha]_D^{22} = +146^0$. (Diese Tatsache ermöglicht eine sorgfältige Reinheitskontrolle der Präparate, die sonst wegen der hohen Lage der Schmelzpunkte schwer ist.)

2. Die Verbrennungsanalysen stimmen gut mit den Werten Karrers überein: C : H : O = 23 : 36 : 3.

3. Das MG der Verbindung ist halb so groß, wie von Karrer angegeben (360, bei Karrer: 704!). Die Summenformel ist daher $C_{23}H_{36}O_3$. Die entscheidende Bestimmung des MG habe ich am Acetylrhetinsäuremethylester ausgeführt, weil hier Störungen durch Dissoziation oder Assoziation ausgeschlossen sind, und zwar a) kryoskopisch in Benzol, b) durch Mischschmelzpunkt in Campher.

Die ebullioskopisch erhaltenen Zahlen von Karrer sind nicht richtig, zweifellos deshalb, weil die beobachtete Siedepunktserhöhung zu klein war, um bei der bekannten Ungenauigkeit der Methode eindeutige Ergebnisse zu liefern. (Was die ebullioskopische MG-Bestimmung der freien Säure durch Karrer anbetrifft, so stimmt sie sehr gut zu meiner Formel, sehr wenig hingegen zu der doppelt so großen Karrers. Dieser muß daher die äußerst unwahrscheinliche Annahme machen, daß die Säure in alkoholischer Lösung fast zu 100% dissoziiert ist.) Die alkalimetrische Titration kann kaum als gewichtiges Argument angesehen werden, da die Möglichkeit hydrolytischer Spaltung des K-Salzes nicht ausgeschlossen ist. Es bleibt somit als entscheidendes Argument für Karrers Angabe über das MG die Bestimmung des Verseifungsäquivalentes des Methylesters. Eine Wiederholung dieses Versuches ergab Bestätigung der von Karrer ermittelten Werte, allerdings wurde damals — und das ist der entscheidende Punkt — unterlassen, nach der Titration die Reaktionslösung aufzuarbeiten. Dabei fand ich nämlich, daß trotz achtstündigen Kochens mit alkoholischer Kalilauge ziemlich genau 50% des Esters unverseift blieben. So ergibt sich das halbe MG.

4. Daß eine COOH-Gruppe vorhanden ist, beweist die Darstellung des Methylesters. Seine schwere Verseifbarkeit deutet darauf hin, daß an

[11]) H 184, 69 (1929); Helv. 15, 140 (1932).

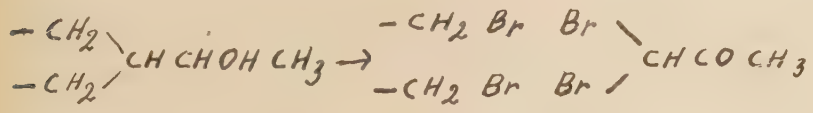
dem C, welches die COOH-Gruppe trägt, nur C-Atome gebunden sind. (Die Regel, daß besonders schwere Verseifbarkeit auf quaternäre COOH-Gruppen zurückzuführen ist, ist kürzlich von Ruzicka[12]) deswegen angefochten wurden, weil er am Methylester der Dehydrocyclogeraniumsäure, deren Carboxyl an einem tertiären C sitzt, ebenso schwere Verseifbarkeit feststellte, wie sie sonst für quaternäre Carboxyle typisch ist. Trotzdem wird man die obige Regel in unserem Falle ruhig anwenden können, zumal ja gerade bei dem von Ruzicka in Frage gestellten Fall, der Abiëtinsäure, die quaternäre Stellung der COOH-Gruppe auf chemischem Wege gesichert werden konnte und diese Säure in ihrem Verhalten mit der Rhetinsäure Ähnlichkeit besitzt.) Weiter spricht für den quaternären Charakter die Unmöglichkeit der Esterbildung mit Dimethylsulfat-NaOH und der Carbinolbildung mit Phenylmagnesiumbromid trotz mannigfach variierter Versuchsbedingungen.

5. Das Vorliegen einer OH-Gruppe ist durch Darstellung eines Monoacetylderivates der Säure und des Esters gesichert (F = 317—318°, also ca. 100° höher als der Wert von Tschirch). Daß es sich um ein alkoholisches Hydroxyl handelt, ergibt sich aus der Widerstandsfähigkeit gegen Diazomethan. Die OH-Gruppe muß ferner sekundär sein. Daß sie nicht tertiär ist, bewies ich durch Dehydrierung des Rhetinsäuremethylesters mit Cu-Bronze zu einer um 2 H ärmeren Verbindung, die nunmehr eine CO-Gruppe besitzt. Daß sie nicht primär ist, wird dadurch wahrscheinlich, daß derselbe Dehydroester auch entsteht bei Behandlung mit CrO_3 in siedendem Eisessig, wo —CHO vermutlich zu COOH weiter oxydiert worden wäre. Daß die Dehydrierungsvorgänge wirklich an der Alkoholgruppe angreifen, geht besonders überzeugend daraus hervor, daß das Acetylderivat gegen CrO_3 außerordentlich resistent ist.

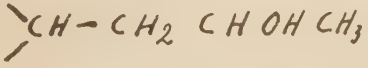
6. Aus einer Beobachtung Karrers folgt ferner, daß quaternäre CH_3-Gruppen vorhanden sein müssen. Er fand bei der Dumas-N-Bestimmung 7% = 1,6 Mol Methan; es müssen also zwei solche Methylgruppen vorhanden sein. Eine derartige Methanabspaltung ist nicht analogielos (vgl. z. B. Windaus und Borgeaud beim Ergosterinpinakon[13]) und Inhoffen[14]). Außer den beiden quaternären CH_3-Gruppen muß noch eine andere Seitenkette vorhanden sein, wie sich aus folgendem ergibt: Läßt man auf Rhetinester in Chloroform Brom einwirken, so werden in lebhafter Reaktion unter Bildung von massenhaft HBr mindestens 5 Mol Br_2 verbraucht. Aus dem Reaktionsprodukt läßt sich durch einfache Vakuumdestillation eine aggressiv riechende, zu Tränen reizende Flüssigkeit herausarbeiten, die sich als asym. Dibromaceton erwies. (Andere definierte Produkte konnten nicht gefaßt werden.) Daß wirklich asymmetrisches und nicht symmetrisches Dibromaceton vorlag, ergibt sich daraus, daß die Substanz auch bei tiefer Temperatur (Eis-Kochsalz-

[12]) Helv. 16, 169 (1933).
[13]) A. 460, 235 (1928).
[14]) A. 427, 130 (1932).

gemisch) flüssig blieb. Asym. Dibromaceton kann sich nur bilden, wenn die Gruppierung $—CHOHCH_3$ bzw. $—COCH_3$ als Seitenkette vorliegt[15]). Für die Herkunft des dritten C-Atoms im Dibromaceton gibt es 2 Möglichkeiten: Die wahrscheinlichere ist die, daß es ursprünglich ein (sekundäres) Ring-C-Atom war, welches durch $—CHOHCH_3$ substituiert ist:



Unwahrscheinlich, aber nicht ganz ausgeschlossen ist es, daß die Gruppierung $—CH_2\,CHOHCH_3$ an ein Ring-C-Atom gebunden ist:



Bezüglich des Skeletts, das der Rhetinsäure zugrundeliegt, läßt sich nach den bisherigen Ergebnissen folgendes aussagen: Denken wir uns in $C_{23}H_{36}O_3$ das COOH und die OH-Gruppe durch H ersetzt, so erhalten wir $C_{22}H_{36}$. Hiervon sind festgelegt 2 C als CH_3-Gruppen, 2 weitere C-Atome als C_2H_5 (statt des $—CHOHCH_3$). Setzen wir nunmehr auch für diese je ein H, so kommen wir zu dem Kohlenwasserstoff $C_{18}H_{28}$ als Grundkörper der Rhetinsäure (bzw. $C_{17}H_{26}$, falls eine 3 gliedrige Seitenkette als Träger der Hydroxylgruppe vorhanden sein sollte).

Die Rhetinsäure besitzt keine nachweisbare Doppelbindung. Das konnte ich zeigen durch die Unempfindlichkeit gegen $H + Pd$, gegen $KMnO_4$ und gegen Tetranitromethan: ferner wird die Acetylrhetinsäure, in der die oxydable OH-Gruppe abgeschirmt ist, von CrO_3 nicht mehr angegriffen! Jedoch ist hiermit ein endgültiger Beweis gegen die Anwesenheit einer Lückenbildung nicht geliefert, da erfahrungsgemäß bei dieser Klasse von Körpern „maskierte", reaktionsunfähige $—C{=}C—$ vorkommen. Wie wir sehen werden, handelt es sich auch hier höchstwahrscheinlich um eine solche (vgl. ihr Vorkommen beim Ergostenol und bei der Apocholensäure[16]). Da dem entsprechenden Paraffin die Formel $C_{18}H_{38}$ zukommt, fehlen 10 H-Atome bei dem Kohlenwasserstoff $C_{18}H_{28}$, d. h. es liegt entweder ein pentacyclisches System vor oder ein tetracyclisches mit einer Doppelbindung. Ein pentacyclisches Skelett ist sehr

---

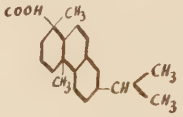
[15]) Daß die Gruppierung $—CHOHCH_3$ asym. Dibromaceton liefert, zeigt die Darstellung der Verbindung aus Isopropylalkohol nach Dippy, Watson und Yates, Soc. 1931, 2508 u. Hughes, Watson u. Yates, Soc. 1931, 3318.

[16]) Heilbronn, Morrison u. Simpson, Soc. 1933, 302., vgl. ferner: Bödecker u. Volk, B 53, 1852 (1920); 54, 2489 (1921); 55, 2302 (1922); Wieland u. Dane, H. 212, 263 (1932); Chuang, A 500, 270 (1933).

unwahrscheinlich; es müßte nämlich weitgehend aus Fünferringen aufgebaut sein

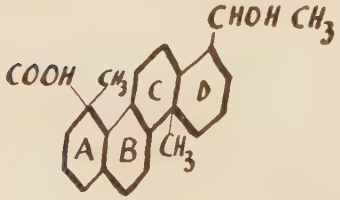
ein Skelett, das bisher nicht bekannt ist. Es bleibt also als wahrscheinlichster Grundkörper ein tetracyclisches Ringsystem mit nicht nachweisbarer Doppelbindung. Ist $C_{18}H_{28}$ richtig, so ist also am ehesten an ein Chrysenderivat zu denken. Sollte aber $C_{17}H_{26}$ zutreffen, so könnte man vielleicht an ein Skelett denken, wie es den Sterinen und Gallensäuren zugrunde liegt.

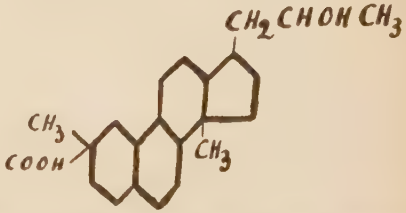
Wenn man die Aufstellung einer vorläufigen Strukturformel versuchen will, so wird man bei der Spärlichkeit des vorliegenden Materials nicht umhin können, gewisse Analogiebetrachtungen heranzuziehen. Eine solche war schon bei der Annahme eines Chrysenskeletts maßgebend. Quaternäres COOH kennt man bei der Abietinsäure, der nach den letzten Arbeiten von Ruzicka[17]) mit größter Sicherheit die Formel



zukommt.

Eine Seitenkette —CHOHCH$_3$ ist vom Pregnandiol bekannt. Als vorläufiges Formelbild für die Rhetinsäure käme also etwa in Betracht:





Die Lage der C=C-Bindung ist in Analogie zu den oben zitierten Arbeiten so angenommen, daß die beiden beteiligten C-Atome besonders gut gegen äußere Einwirkungen abgeschirmt erscheinen. Diese Formel erklärt alle bisher besprochenen experimentellen Tatsachen. Es sollen im Anschluß daran noch folgende Punkte behandelt werden:

1. Dehydrierung zu 1, 2, 7-Trimethylnaphtalin. Das Auftreten von 2 CH$_3$-Gruppen an benachbarten Stellen des Kerns ist nach den grundlegenden Arbeiten von Ruzicka[18]) selbst auf eine Sprengung eines

[17]) Helv. 15, 1300 (1932); Helv. 16, 169 (1933).
[18]) Helv. 15, 431 (1932).

kondensierten, hydrierten Ringsystems zurückzuführen, z. B. nach dem Schema

Woher stammt das CH_3 in der 7-Stellung? Nimmt man an, daß die Ringe A und B als Naphtalinkerne bei der Dehydrierung auftreten, so entstammen die CH_3-Gruppen in 1 und 2 dem Ring C. Das Methyl an C_7 wäre dann dasjenige, welches vorher mit COOH benachbart an C_8 saß. Oder man müßte annehmen, daß CH_3 und COOH im Gegensatz zu den oben aufgestellten Formeln an C_7 säßen. An sich ist Methylwanderung bei der Dehydrierung mit Selen keineswegs selten. Sie tritt z. B. bei dem Abbau des Cholesterins, Ergosterins und Sexualhormons[19]) zu $C_{18}H_{14}$ ein. Und bei der Dehydrierung von Alantolacton hat Ruzicka[20]) selbst, der bis vor kurzem diese Möglichkeit ausschloß, die Methylwanderung nachgewiesen.

2. Schließlich verdienen noch 2 Reaktionen der Rhetinsäure wegen ihres eigenartigen Verlaufs eine kurze Erwähnung:

a) Läßt man auf Rhetinsäure konz. HNO_3 einwirken, so entsteht — neben einer großen Menge undefinierter Schmieren und von Oxalsäure — eine Säure der Formel $C_{16}H_{23}NO_4 = C_{15}H_{22}NO_2COOH$, die als Monocarbonsäure durch Darstellung ihres Methylesters erwiesen werden konnte.

b) Beim Behandeln der freien Säure mit Brom (diese verhält sich anders als der oben besprochene Rhetinester und auch die Acetylverbindung, die von Brom überhaupt nicht angegriffen wird), entsteht der der formulierten Nitroverbindung entsprechende Bromkörper: $C_{15}H_{22}BrCOOH$. Bei beiden Reaktionen werden also 7 C abgespalten. Da der Bromangriff zweifellos von der Seite der CHOH-Gruppe aus erfolgt — darauf deutet, daß die Acetylrhetinsäure gegen Brom resistent ist und daß die CHOH-Gruppe bei der Bromierung verschwindet — liegt die Vermutung nahe, daß die 7 C-Atome am Ring D abgetrennt wurden. Das Skelett würde also die vier bzw. drei C-Atome des Ringes D, eine Methylgruppe und 2 bzw. 3 C-Atome der Seitenkette abgeben. Für eine präzise Aussage über die Struktur der C_{16}-Verbindung reicht das vorhandene Material nicht aus. Als besonders wichtig für das Problem des Feinbaus der Rhetinsäure haben diese Verbindungen deswegen zu gelten, weil sie das erste, definierte Abbauprodukt der genannten Säure auf einer ziemlich hohen Zwischenstufe darstellen.

---

[19]) Vgl. dazu besonders Rosenheim u. King, Chem. u. Ind. 52, 299 (1933).

[20]) Helv. 16, 268 (1933).

IV.

Über die Kohlehydrate der Frauenmilch.

Die Natur der in der Milch vorkommenden Kohlehydrate ist begreiflicherweise der Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Dabei hat man stets nur ein und denselben Zucker gefunden, nämlich die Lactose. Dies trifft auch heute noch für die bekannteren Tiermilchsorten zu. Überraschend war daher eine vor etwa 10 Jahren erschienene Mitteilung Polonovskis[21]), daß in der Frauenmilch außer der Lactose noch andere Zucker vorhanden sein müssen. Der Autor ging dabei von einer Beobachtung Denigès[22]) aus, daß das Reduktionsvermögen des enteiweißten Frauenmilchserums einen anderen Zuckergehalt errechnen läßt, als die polarimetrische Bestimmung. Polonovski konnte dann im Laufe seiner Untersuchungen in der Tat das Vorhandensein von mindestens zwei weiteren Zuckern, der Gynolactose und Allolactose, sicherstellen[23]). Der Beweis wurde so geführt, daß die nach (fermentativer) Abtrennung erhaltenen Restlösungen fraktioniert wurden. Dabei wurden zunächst linksdrehende, schließlich auch wieder rechtsdrehende Fraktionen erhalten. Aus den letzteren konnte ein definiertes Disacharid isoliert werden, dessen Identität mit der 1,6-Galaktosidoglukose von Helferich[24]) durch direkten Vergleich sehr wahrscheinlich gemacht worden ist. Auch aus den linksdrehenden Fraktionen haben die französischen Autoren eine geringe Menge eines Disacharides isoliert, dessen Drehung bei dem bisher erzielten Reinigungsgrad etwa $[\alpha]_D = -25^0$ beträgt.

Es erscheint von hohem, physiologischen Interesse, diese Befunde nachzuprüfen und zu erweitern. Die längst bekannte, aber bisher unerklärliche Tatsache, daß in der Säuglingsernährung Tiermilch keinen vollwertigen Ersatz für Frauenmilch darstellt, selbst wenn man durch entsprechende Zusätze ihre quantitative Zusammensetzung derjenigen der Frauenmilch angleicht, könnte von diesen neuen Erfahrungen aus vielleicht ihre Deutung finden. Es sei allerdings hervorgehoben, daß der Grund für die Sonderstellung der Frauenmilch nicht unbedingt in der Verschiedenheit der Kohlehydrate gesucht zu werden braucht; man könnte ebenso gut auch an hormonale Bestandteile denken.

Einer Nachprüfung der Literaturangaben stand die Tatsache hindernd im Wege, daß die Vorschriften der genannten Autoren sehr allgemein gehalten sind und daher die Einzelheiten der Methode zur Anreicherung der Begleitzucker der Lactose in zahlreichen Versuchen erst ausgeprobt werden mußten.

Die Milch wird durch Fällung mit großen Mengen Alkohols enteiweißt; dabei bleibt ein in verdünntem Alkohol ziemlich gut löslicher

---

[21]) C. r. soc. biol. 1922, I, 853.
[22]) These de pharmakopat superieure, Paris 1892.
[23]) C. r. 1931, XVII, 303.
[24]) Helferich u. Rauch, B 59, 2655 (1926).

Eiweißstoff, das Opalescin[25]), in Lösung, dessen Abtrennung nach meinem Erfahrungen am besten auf folgende Weise gelingt: Man engt die alkoholisch-wässrige Lösung im Vakuum auf die Hälfte des ursprünglichen Milchvolumens ein und zentrifugiert; dabei scheidet sich die Hauptmenge des Opalescins zusammen mit Fett als dünne Haut ab, die beim Abgießen an der Gefäßwand haftet. Nach dreimaligem Ausäthern wird bis zur beginnenden Kristallisation eingedampft und die gesamte Masse mit heißem Methanol ausgezogen. In diesem ist Lactose sehr schwer, Gynolactose hingegen ziemlich gut löslich. Die abfiltrierte Lösung wurde wiederum bis zur beginnenden Kristallisation eingeengt, und die beschriebene Reihe von Operationen solange (etwa 4—5mal) wiederholt, bis linksdrehende Lösungen erhalten wurden. Das reinste Präparat, das so isoliert wurde, zeigte die Drehung $[\alpha]_D = -20^0$. Alle diese Präparate enthalten noch Milchzucker in nicht unbeträchtlichen Mengen. Da die fraktionierte Kristallisation nur mühselig und unter großen Substanzverlusten die weitere Reinigung gestattete, suchte ich nach anderen Abtrennungsverfahren. Zu diesem Zweck habe ich drei Versuchsreihen durchgeführt.

a) Die Acetylierung. Aus dem sirupösen Reaktionsprodukt konnte jedoch nie etwas anderes als Octaacetyllactose erhalten werden.

b) Ebenso wenig Erfolg hatte der Versuch, ein p-Bromphenylosazon der Gynolactose darzustellen. Allerdings ist schon bei der Lactose die Gewinnung eines solchen Osazons nicht ganz einfach, denn es ist Hofmann[26]) nicht gelungen, es darzustellen. Ich selbst habe zwar aus reiner Lactose die wohldefinierte, bisher unbekannte Verbindung erhalten, aber aus den sirupösen Zuckergemischen der Frauenmilch kristallisierte kein N-haltiges Zuckerderivat aus, sondern das Hydrazin reagierte schneller als mit den Zuckern mit der zugesetzten Essigsäure, so daß deren Bromphenylhydrazid als einziges kristallisiertes Produkt gefaßt wurde.

c) Einen gewissen Erfolg brachte schließlich die enzymatische Trennung. Da Gynolactose nach den Angaben von Polonovski nicht vergärbar ist — was ich durch eigene Gäransätze bestätigt habe —, ließ ich auf das vorliegende Gemisch Sacharomyces fragilis einwirken, dessen Lactasewirkung bekannt ist (auch ein Extrakt aus der Kultur dieser Pilze ist gegenüber Gynolactose völlig unwirksam). Nach der Vergärung der Lactose hinterblieb ein Sirup, aus dem der linksdrehende Zucker in Form seiner Bionsäure isoliert wurde. Nach den Angaben von Goebel[27]) oxydierte ich die Lösung des Sirups mit Bariumhypojodit. Das mit Alkohol gefällte gynolactobionsaure Ba war selbst nicht kristallisiert und lieferte leider auch kein kristallisiertes Alkaloidsalz, eine Tatsache, die den Erfahrungen an anderen Bionsäuren[28]) durchaus entspricht. Die erhaltene

---

[25]) Wroblenski, H 26, 308 (1899).
[26]) A 366, 277 (1909).
[27]) Journ. biol. chem. 72, 809 (1927).
[28]) Glattfeld u. Hanke, Am. chem. soc. 40, 973 (1918).

Bionsäure war jedenfalls sowohl in ihrer Drehung als auch in ihren sonstigen Eigenschaften von der Lactobionsäure durchaus verschieden ($[\alpha]_D$ = —36°, Lactobionsäure = + 20°).

Ist es somit auch nicht gelungen, ein kristallisiertes Derivat des linksdrehenden Zuckers in der Frauenmilch zu erhalten, so haben die weiteren Versuche mit der erwähnten Bionsäure doch einen Beitrag zum Konstitutionsproblem der Gynolactose liefern können. Wenn man die Gynolactobionsäure durch Erhitzen mit verd. H_2SO_4 spaltet, so läßt sich in der Hydrolysenflüssigkeit Galactose nachweisen, die durch Oxydation zur Schleimsäure und als Bromphenylosazon identifiziert wurde*). Welche On-säure bei der Hydrolyse neben Galactose entsteht, konnte ich nicht aufklären, da ich das mit Alkohol gefällte Ba-Salz weder in ein kristallisiertes Brucinsalz noch in ein Phenylhydrazid überführen konnte.

Ist somit dieses Problem keinesfalls vollständig gelöst, so erscheint es mir doch wesentlich, eine Methode ausgearbeitet zu haben, welche den Weg zur weiteren Erforschung dieses chemisch wie physiologisch hochinteressanten Körpers weist.

Experimenteller Teil.

1. Gepaarte Glukuronsäuren und ihre Spaltung.

a) β-Naphtolglukuronsäure.

Bei der Ätherextraktion der mit HCl angerührten Bleiessigfällung aus Kaninchenharn machte ich die Erfahrung, daß die drei ersten Extraktionen sehr schmutzig waren; die reinste Substanz erhält man aus der vierten bis sechsten Fraktion. Nach Verfütterung von 120 g β-Naphtol ist die Ausbeute (25 l Kaninchenharn): 28 g.

Kristallwasserhaltig: F = 100°; $[\alpha]_D$ = — 90,65°.

Kristallwasserfrei: F = 150°; $[\alpha]_D$ = — 100,85°.

b) Rhizinsäure.

Unter mechanischem Rühren werden in einen Liter siedenden Eisessigs 750 g Glycyrrhic. ammon. in kleinen Portionen eingetragen. Nach 5tägigem Stehen im Eisschrank zentrifugieren, den Bodensatz zweimal mit Eisessig nachwaschen und auf Glasnutschen absaugen. Man wäscht zweimal mit Eisessig, Alkohol und Äther nach. Jetzt wird aus Eisessig oder besser aus 80%igem Alkohol umkristallisiert, indem man in der Siedehitze in möglichst wenig H_2O löst und 99%igen Alkohol bis zur beginnenden Trübung hinzufügt. Setzt man der siedend heißen Lösung etwas Tierkohle zu, so ist das Salz nach 2—3maligem Umkristallisieren analysenrein. Aus-

*) Die Angabe von Hofmann (l. c.), daß sich dieses Osazon nicht durch Umkristallisieren reinigen läßt, kann ich nicht bestätigen. Aus 50%igem Alkohol oder wässrigem Pyridin erhielt ich es in zentimeterlangen Nadeln, die ca. 20° höher schmelzen, als in der Literatur angegeben, und deutliche Mutarotation zeigen.

beute: 45 g = 6 %. Drehung: 14,1 mg in 5ccm 33%iger Essigsäure; 2 dm-Rohr, $\alpha = + 0{,}35^0$; $[\alpha]_D^{18} = + 62{,}5^0$.

Analyse des NH_4-Salzes: 1,3361 g verbrauchen 12,34 ccm n/10 HCl. Daraus ergäbe sich das MG = 1083. Ber. für das saure Ammoniumsalz: 1089.

2. Fermentversuche.

1. Emulsin.

	A	B	C
Ferment	0,5 g	0,5 g	—
Naphtolgl.	0,2 g	—	0,2 g
Puffer	10 ccm	10 ccm	10 ccm
H_2O	40 ccm	40 ccm	40 ccm
Toluol	1 ccm	1 ccm	1 ccm

Puffer: n/5 Essigsäure: n/5 Na-acetat = 1 : 1.

Temp.: 37,5°. Auch nach 10 Tagen keine Spaltung. Das gleiche Ergebnis hatte eine Versuchsreihe, in der das pH von 4,1 bis 7,3 abgestuft wurde.

2. Takadiastase.	T_1	T_2	T_3	Ta	Tb
Naphth.	0,2 g	0,2 g	0,2 g	—	—
Ferment	0,4 g	0,4 g	0,4 g	0,4 g	0,4 g
Puffer	20 ccm 1:1	1:4	1:16	1:1	1:16
Wasser	20 ccm	20	20	20	20
Toluol wie oben.					
P_H	4,7	5,3	5,9	4,7	5,9

Auch nach 14 Tagen keine Spaltung. Kontrolle mit Amygdalin: nach einer halben Stunde stark positiv.

3. Aspergillus niger — Extrakt.

	1	2	3	
Naphtolgl.	0,2 g	—	0,2 g	Amygdalin
Ferment	2 ccm	2 ccm	2 ccm	
Wasser	10 ccm	10 ccm	10 ccm	

Toluol wie oben. Temp.: 37°. Keine Spaltung.

4. Baicalinase.

	B_1	B_2	B_3	B_4
Rhizins.	0,2 g	0,2 g	0,2 g	—
Ferment	20 ccm	—	20 ccm	20 ccm
Puffer p_H=6	20 ccm	20 ccm	20 ccm	20 ccm
H_2O	10 ccm	10 ccm	10 ccm	10 ccm

Toluol wie oben. Keine Spaltung.

5. Sacharomyces fragilis.

	1	2	3	4	5
Naphtolgl.	0,1 g	0,1 g	0,1 g	—	0,1 g Salicin
Ferment	2 ccm	2 ccm	2 ccm	2 ccm	2 ccm
5 ccm Puffer p_H =	5,6	6,2	6,6	6,2	6,2

Wasser ad 10 ccm. Je 3 Tropfen Toluol.

Versuch 5: Nach 1/2h positiv; alle anderen Versuche zeigen auch nach fünf Tagen keine Spaltung.

6. Maltase.

	1	2	3
K-Rhizinat	0,5 g	0,5 g	—
Ferment	5 ccm	—	5 ccm
Puffer p_H = 5,6	10 ccm	10 ccm	10 ccm
Wasser	25 ccm	25 ccm	25 ccm

Toluol wie oben. Temp.: 37,6°. Keine Spaltung.

7. Extrakt von frischer Süßholzwurzel mit 250 ccm Glycerin (nach Miwa).

	1	2	3	4	5	6
K-Rhiz.	0,3 g	—	0,3 g	—	0,3 g	—
Ferment	20 ccm	20	20	20	20	20
Puffer	20 ccm	20	10	10	10	10
Wasser	—	—	10	10	10	10

Toluol wie oben.

p_H von 1 und 2:8; p_H von 3 und 4:7; p_H von 5 und 6:4,4. (Einstellung des p_H mit Na_2HPO_4 und KH_2PO_4).

2. Hydrolyse der Rhizinsäure.

Je 10 g werden mit 500 ccm Wasser und 100ccm n-H_2SO_4 3h im Autoklaven bei 130° hydrolysiert. Man filtriert von der ausgeschiedenen Rhetinsäure ab, neutralisiert mit $BaCO_3$, filtriert wieder und engt im Vakuum auf ein kleines Volumen ein. Man fällt das Ba-Salz mit Alkohol, löst es in Wasser wieder auf, entfärbt mit Tierkohle und fällt von neuem mit Alkohol.

Analyse: 0,3687 Ba-Salz geben 153,2 mg $BaSO_4$.
4,612 mg Subst. —4,485 mg CO_2; 1,650 mg H_2O.
Gef. Ba = 24,5% C = 26,5 H = 4,0.
Ber. Ba = 24,6 C = 25,7 H = 4,0 für $C_6H_9O_7$ ba · H_2O.
Drehung: 1. 15h über Alkohol getrocknet, 57,8 mg in 7 ccm H_2O; α = —0,15°; $[\alpha]_D$ = —11,7°.

2. Bei Zimmertemperatur getrocknet. 188,2 mg in 9,4 ccm H_2O; α = 0,26°; $[\alpha]_D^{21}$ = —6,5°.

[Drehung des Ba-Glukuronats: $[\alpha]$ = + 17,5°. (F. Ehrlich.)]

0,4726 mg Ba-Salz in 100 ccm H_2O, + 150 ccm Na_2CO_3 — $NaHCO_3$; + 40 ccm n/10 J_2. Verbraucht 16,9 ccm (nach Willstätter-Schudel). Daraus ber. MG = 422.

0,2295 mg Ba-Salz verbrauchen bei der gleichen Bestimmung 9,3 ccm n/10 J_2. Daraus MG = 374. Ber. für Glukuronsäure: MG = 194.

3. Dinitrophenylhydrazon der Glukuronsäure. 0,2 g Glukuron und 0,2 g des Hydrazins werden mit 20 ccm abs. Alkohols eine Stunde am Rückflußkühler gekocht. Im Eisschrank kristallisiert alsbald die ganze Masse; sie wird abgesaugt, mit Alkohol und Äther gewaschen, im Exsikkator scharf getrocknet und aus 50 %igem Methanol dreimal umkristallisiert.

F = 207°. Ausbeute = 350 mg.
Drehung: 59,3 mg in 10 ccm Dioxan, 2-dm-Rohr.
$\alpha = -0{,}55°$; $[\alpha]_D^{19} = -46{,}8°$.
Analyse: 3,310 mg; 4,680 mg CO_2, 1,100 mg H_2O
3,35 mg; 1,134 mg H_2O, 4,730 mg CO_2.
2,660 mg; 0,3200 ccm N_2, 775 mm Hg, 20° C
3,173 mg; 0,3771 ccm N_2, 775 mm Hg, 20° C
$C_{12}H_{14}O_{10}N_4$: berechnet C = 38,50; H = 3,74; N = 14,97.
gefunden: C = 38,56; H = 3,72 N = 14,29
= 38,45 = 3,78 = 14,12

5 g Ba-glukuronat (?) werden mit 18,75 ccm n-H_2SO_4 und 200 ccm 96prozentigem Alkohol versetzt, und das Filtrat im Vakuum möglichst weit eingeengt. Der so erhaltene Sirup, der trotz wiederholten Animpfens auch nach Monaten nicht kristallisierte, wird mit 0,2 g Dinitrophenylhydrazin und 20 ccm 99 %igem Alkohol wie oben eine Stunde gekocht. Im Eisschrank keine Spur von Kristallen.

Versuch der Oxydation des Glukuronsäuresirups zur Zuckersäure:

5 g Sirup und 6 ccm verdünnter HNO_3 werden 5 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Man erhält eine weiße, sirupöse Masse, die Fehlingsche Lösung äußerst stark reduziert, aber keine Naphtoresorcinreaktion gibt. Beim Versuch der Gewinnung des zuckersauren, sauren Kaliumsalzes entstand keine Spur einer Fällung. (Diese Versuche lassen vermuten, daß es sich vielleicht um Mannuronsäure handelt.)

Auch die Isolierungsversuche mit Nitrophenylhydrazin, Phenylhydrazin und sogar mit Bromphenylhydrazin nach Tschirch verliefen völlig ergebnislos.

4. Rhetinsäure und ihre Derivate.

Die aus der Hydrolysenflüssigkeit ausgefallene Säure wird aus Äther und Eisessig unter Zusatz von Ligroin umkristallisiert.
F = 303°. Drehung: 12,2 mg in 5ccm Dioxan, 2 dm-Rohr; $\alpha = +0{,}71$; $[\alpha]_D^{20} = +145{,}5°$.
Mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. In Dioxan, Pyridin, Eisessig und Chloroform spielend, in Benzol gut, in Äther schwer löslich, in Petroläther unlöslich.

Zur Analyse wird im Hochvakuum bei 100° getrocknet. 4,872 mg Subst.; 13,660 mg CO_2, 4,250 mg H_2O

Gef. C = 76,5 H = 9,8
Ber. für $C_{23}H_{36}O_3$ C = 76,7 H = 10,0
(Karrer: C = 76,2 H = 10,2).

Methylester: 2 g Säure werden, in Methanol gelöst, mit ätherischer Diazomethanlösung verestert. Nach dem Verdampfen des Äthers hinterbleibt ein kristalliner Rückstand, der aus Alkohol in langen Nadeln kristallisiert. F = 255°. Drehung:

6,2 mg in 5 ccm Dioxan; 2 dm-Rohr; $\alpha = +0{,}41°$; $[\alpha]_D^{18} = +165{,}3°$.
4,8 mg in 5 ccm Essigester; 2 dm-Rohr; $\alpha = +0{,}32°$; $[\alpha]_D^{20} = +166{,}7°$.

Der Ester ist leicht löslich in Chloroform, Aceton, Dioxan, Benzol, schwer in kaltem Alkohol und in Äther. Mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung, mit konz. H_2SO_4 Gelbfärbung.

Analyse: 4,508 mg; 4,790 mg Subst. — 12,660 mg; 13,470 mg CO_2;3,930 mg; 4,210 mg H_2O.

$C_{24}H_{38}O_3$ berechnet C = 77,0 H = 10,2.
gefunden: C = 76,7; 76,6 H = 9,76; 9,84
3,280 mg Subst. —2,020 mg AgJ Ber. 8,3 % OCH_3; gef. 8,14.

Bestimmung des Verseifungsäquivalentes: 0,4337 g Ester und 25 ccm n/10 alkoholische KOH werden 8 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Die Titration ergibt einen Verbrauch von 5,0 ccm KOH. (Ber. für MG 374 : 11,58 ccm). Die titrierte Lösung wird erneut alkalisch gemacht und dreimal ausgeäthert. Der Rückstand wiegt 205 mg. Er besteht aus rein weißen Nädelchen. F = 241°; Mischschmelzpunkt mit reinem Ester: 244°.

Acetylierung der Rhetinsäure.

5 g Säure, 25 ccm Essigsäureanhydrid und 5 g wasserfreies Na-acetat werden 15 Minuten aufgekocht, die Lösung in Wasser gegossen, der körnige Niederschlag abgesaugt, getrocknet und aus Dioxan umkristallisiert. F = 317—318° korr. (Sintern bei 316°). Drehung: 8,3 mg in 5 ccm $CHCl_3$, 2 dm-Rohr, $\alpha = +0{,}48°$; $[\alpha]_D^{19} = +144{,}5°$.

Zur Analyse bei 100° im Hochvakuum getrocknet. 4,538 mg Substanz —12,410 mg CO_2; 3,800 mg H_2O.
Berechnet: C = 74,6 H = 9,45.
Gefunden: C = 74,6 H = 9,4 (Karrer: C = 74,8, H = 9,6).

Acetylrhetinsäuremethylester.

2 g Acetylprodukt werden mit Diazomethan verestert. Aus Isopropylalkohol oder Benzin (Kp. 70°) fettglänzende, 5- und 6-eckige Tafeln. F = 299—300°. Drehung: 6,1 mg in 10 ccm Benzol; 2 dm; $\alpha = +0{,}18°$. $[\alpha]_D^{19} = +147{,}6°$.

Analyse: 4,870 mg Subst. — 13,450 mg CO_2; 4,110 mg H_2O.

Berechnet: C = 75,0 H = 9,6.
Gefunden: C = 75,3 H = 9,4.

77,7 mg verbrauchen 1,6 ccm n/10 NH_4SCN und liefern 41,7 mg AgJ. Berechnet OCH_3 = 7,5. Gefunden: OCH_3 = 7,3; 7,1.
0,200 mg in 3,040 mg Campher: $\Delta = 6{,}0^0$ MG = 440.
0,271 mg in 3,680 mg Campher: $\Delta = 6{,}7^0$ MG = 441.

0,108 g in 10 ccm Benzol $\Delta = 0{,}114^0$, MG = 427.
3,401 mg; 1,960 mg AgJ OCH_3 = 7,6 % (n. Karrer: 3,8 %).

Versuch der Carbinolbildung.

a) 1 g Rhetinester wird mit 1,5 g Brombenzol und 0,22 g Mg in 30 ccm abs. Äther umgesetzt, die Lösung wie gewöhnlich aufgearbeitet (nur wird statt des Äthers zum Extrahieren des Reaktionsproduktes Chloroform verwandt), und der Rückstand aus Alkohol umkristallisiert. Zentimeterlange Nadeln. F = 242°; Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial: F = 242°.

b) Zu einer Grignardlösung aus 5,6 ccm Brombenzol und 1,25 g Mg in 40 ccm abs. Äther werden 4 g Rhetinester in 30 ccm abs. Benzol hinzugefügt. Zunächst fällt ein grauer Niederschlag, der beim kräftigen Umschütteln fast ganz verschwindet. Nach dreistündigem Kochen auf dem Wasserbad wird das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand noch 8 Stunden auf dem Wasserbade trocken weiter erhitzt. Beim Anreiben des braunen Sirups mit Alkohol kristallisiert etwa die Hälfte des Ausgangsmaterials wieder aus. Aus dem Filtrat konnte keine definierte Substanz mehr isoliert werden; da es möglicherweise doch etwas gebildetes Carbinol enthielt, wurde das Lösungsmittel abgedampft, der Rückstand in Eisessig gelöst und mit 3 g CrO_3 eine Stunde am Rückflußkühler gekocht. Beim Verdünnen mit Wasser fallen schmierige Flocken aus; daher wird mit Chloroform ausgeschüttelt, dieses mit Wasser und Soda gewaschen und das Lösungsmittel wieder verdampft. Der Rückstand kristallisiert nicht und wird daher im Hochvakuum destilliert. Es geht eine geringe Menge Substanz über, die im Schwertansatz erstarrt und sich als Diphenyl erweist.

Katalytische Hydrierung.

0,2 g Rhetinester werden in 10 ccm Eisessig gelöst und mit 1 g Pd-Katalysator versetzt. Der Wasserstoffverbrauch ist minimal. Nach sechsstündigem Schütteln wird das Pd abfiltriert und die Substanz mit Wasser gefällt. Aus Alkohol umkristallisiert. F = 251°; Mischprobe mit Rhetinester: 252°.

Oxydationsversuche.

a) Mit $KMnO_4$: 2 g Rhetinsäure werden in 200 ccm Aceton gelöst und unter dauerndem Rühren mit 5 g Permanganat versetzt. Nach 24 Stunden wird mit Wasser verdünnt und das überschüssige $KMnO_4$ durch SO_2 reduziert. Vom Braunstein wird abfiltriert, und der Rückstand dreimal mit siedendem Wasser ausgezogen. Die vereinigten Filtrate werden auf dem Wasserbad eingeengt und sodann mit Äther ausgeschüttelt.

Der Rückstand des Ätherextraktes kristallisiert erst nach dreimaligem Umlösen aus Aceton unter Zusatz von wenig Wasser in schönen Tafeln. F. = 278°; Mischprobe mit Rhetinsäure: 281—283°.

Da sich noch keine sichere Entscheidung darüber treffen läßt, ob Ausgangsmaterial vorliegt, werden 100 mg mit Diazomethan verestert. Der umkristallisierte Ester schmilzt bei 253°; Mischprobe mit Rhetinester: 253°.

b) Mit Chromsäure.

1. 1 g Rhetinester wird in 10 ccm siedendem Eisessig gelöst, mit einer Lösung von 1 g CrO_3 in 5 ccm Eisessig und 1 ccm Wasser versetzt und zwei Stunden am Rückflußkühler gekocht. Hernach wird mit Wasser verdünnt und ausgeäthert. Der Rückstand des Äthers, ein gelbes Harz, wird in Methanol gelöst. Nach einem Tage kristallisieren 10 mg in derben Oktaedern aus. Diese werden aus Methanol unter Zusatz von etwas Aceton umkristallisiert. Prismen. F = 242°. Reaktion neutral.

Analyse: 4,776 mg Subst. — 13,470 mg CO_2; 4,080 mg H_2O; Spur Rst.
C = 76,92; H = 9,56.
Ber. für $C_{24}H_{36}O_3$: C = 77,4%; H = 9,7%.

2. 1 g Acetylrhetinsäure wird mit 1 g CrO_3 1/2 h am Rückflußkühler gekocht. Während beim Ester sofortiges Aufschäumen und Grünfärbung der Lösung eintrat, ist dies hier erst nach längerer Zeit der Fall. Die mit Wasser verdünnte Lösung liefert im Eisschrank glitzernde Prismen (0,7 g), die sich durch Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt als Ausgangsmaterial erweisen. Oxalsäure läßt sich nicht nachweisen, während sie bei der Oxydation des Esters mit CrO_3 massenhaft auftritt, ein Zeichen, daß die Acetylverbindung gegen die Oxydation resistent ist.

c. Mit Salpetersäure.

1. 3 g Rhetinsäure werden mit 20 ccm HNO_3 auf dem Wasserbad gekocht. Zunächst tritt Aufblähung ein, dann geht die Substanz in Lösung. Nach etwa einer halben Stunde scheidet sich ein körniger Niederschlag ab, dessen Menge beim Versetzen mit Wasser noch wächst. Man saugt ab und löst in möglichst wenig Eisessig. Nach 14tägigem Stehen scheidet sich eine geringe Menge Kristalle ab; diese werden aus Alkohol dreimal umkristallisiert. Jede Kristallisation erfordert mehrere Tage; man erhält so 4- und 5-eckige Tafeln vom Schmelzpunkt F = 231—232° (korr.). Ausbeute 75 mg. Qualitative N-Probe: Schwach positiv. Die Substanz ist in Aceton, Chloroform und Dioxan leicht, in Wasser schwer, in Benzol und Petroläther unlöslich. Reaktion: sauer.

Analyse: 4,848 mg Substanz—11,525 mg CO_2; 3,240 mg H_2O. 3,363 mg Substanz—0,137 ccm N (23°, 761 mm Hg) C = 64,8 H = 7,5 N = 4,66.
0,231 mg in 3,390 mg Campher; $\triangle$ = 8,7° MG = 314.
0,271 mg in 4,000 mg Campher; $\triangle$ = 8,3° MG = 326.
Ber. für $C_{16}H_{23}NO_4$ C = 65,5; H = 7,85; N = 4,8; MG = 293.

2. Bei einem zweiten Ansatz wird das körnige Reaktionsprodukt direkt im Hochvakuum getrocknet und mit Diazomethan verestert. Der Rückstand der ätherischen Lösung wird in Aceton gelöst und solange mit Petroläther versetzt, bis die Lösung völlig farblos ist. Sie wird durch ein Filter gegossen; beim Abdunsten an der Luft hinterbleibt ein gelblicher Sirup, auf dem oben schneeweiße Kristalldrusen sitzen. Diese werden mit Petroläther abgeschwemmt, auf einem Willstätter-Nagel gesammelt und aus Aceton+Methanol umkristallisiert. F = 194° — 196° unkorr. Ausbeute: 35 mg.

Analyse: 4,691 mg Substanz — 11,125 mg CO_2; 3,260 mg H_2O; 0,005 mg Rst. — 3,051 mg Subst. — 1,880 mg AgJ. — 3,040 mg Subst. — 0,126 ccm N; (22°, 753 mm Hg.) 2,829 mg Subst. — 0,110 ccm N (23°, 761 mm.) (bei langsamer Verbrennung, um das eventuelle Mitentstehen von Methan zu verhindern).

Gef. C = 64,7%; H = 7,8; OCH_3 = 8,14; N = 4,66; 4,44.

Dehydrierung mit Cu-Bronze.

3 g Rhetinester werden mit 6 g Bronze im Mörser verrieben und in einem mit Steigrohr versehenen Kolben im Metallbad langsam auf 300° erhitzt. Diese Temperatur wird eine Stunde innegehalten; dabei schlagen sich am Kolbenhals braune Tröpfchen nieder und es tritt deutlicher Eukalyptusgeruch auf. Nach dem Erkalten wird mit Chloroform extrahiert, das Lösungsmittel abgedampft, und der schwarze Sirup mit CH_3OH und wenigen Tropfen Aceton angerieben. Die Masse erstarrt sofort kristallin. Man kristallisiert aus Propylalkohol unter Zusatz von etwas Alkohol um und erhält so in Blättern angeordnete Prismen. F = 240°. Drehung: 19,4 mg in 2 ccm eines Dioxan-Acetongemisches, 2 dm-Rohr; α = + 3,52; $[a]_D^{22}$ = + 181,5°. Ausbeute: 1,2 g.

Die Substanz ist in Aceton und Chloroform leicht, in Dioxan sehr schwer löslich. Die Kristalle sind, obwohl schwach braun angefärbt, sofort analysenrein.

Analyse: 5,142 mg Substanz — 14,570 mg CO_2; 4,450 mg H_2O; 0,011 Rst. — 3,235 mg Substanz — 1,655 mg AgJ (nach der gewöhnlichen Methode) 3,811 mg Substanz—2,590 mg AgJ (nach der NCH_3-Methode).

Ber. für $C_{24}H_{36}O_3$: C = 77,4 H = 9,7 OCH_3 = 8,3.

Gef. C = 77,4; H = 9,7; OCH_3 = 6,76; 8,9.

Versuch der Darstellung eines Semicarbazons des Ketonesters: 0,175 g Ketonester werden in 2 ccm Eisessig heiß gelöst und mit 65 mg Semicarbazidchlorhydrat + 0,1 g Kaliumacetat versetzt und aufgekocht. Da nach 24 Stunden noch nichts auskristallisiert war, wurde mit Wasser gefällt, abgesaugt und die pulvrige Masse aus Eisessig umkristallisiert. Harte Nadeln, die sich durch Schmelzpunkt und durch Mischschmelzpunkt als Ausgangsmaterial erweisen. Das Filtrat liefert beim Eindunsten eine winzige Menge Nadeln, die aus Benzin umkristallisiert werden.

Qualitative N-Probe positiv. Substanzmenge zur Analyse nicht ausreichend.

Einwirkung von Brom.

a) 0,5 g Rhetinsäure werden in 5 ccm Chloroform gelöst, mit 1 g Brom versetzt und 24 Stunden stehen gelassen. Es hinterbleibt ein brauner Sirup, der aus Methanol und Wasser umgefällt wird. Beim dritten Male erhält man schöne Nadeln, die noch zweimal aus verdünntem Methylalkohol umkristallisiert werden. Ausbeute: 0,2 g. F = 210°. Reaktion: stark sauer. Drehung: 21,8 mg in 5 ccm Dioxan; 2 dm-Rohr. $\alpha = +1{,}18^0$, $[\alpha]_D = +135{,}3^0$.

Analyse: 4,680 mg Substanz — 10,030 mg CO_2; 2,890 mg H_2O. — 3,171 mg Substanz — 0,750 mg Brom.

Ber. für $C_{16}H_{23}O_2Br$:	C = 58,7	H = 7,0	Br = 24,5
Gef.:	C = 58,5	H = 6,9	Br = 23,60

b) 5,0 ccm Brom werden in 40 ccm Chloroform gelöst. Zu einer Lösung von 2,5 g Rhetinester in 20 ccm $CHCl_3$ läßt man die Bromlösung tropfenweise zufließen. Es entwickelt sich massenhaft HBr, und die Bromfarbe verschwindet allmählich. Erst nach Zugabe von 20 ccm bleibt die Farbe über eine Stunde bestehen. Man fügt jetzt den Rest der Bromlösung hinzu und läßt 24 Stunden stehen. Dann wird im Vakuum eingeengt und im Exsikkator tagelang über KOH getrocknet, bis keine HBr-Dämpfe mehr entweichen. Der braune Sirup kristallisiert trotz mannigfacher Versuche (Anreiben mit Eisessig, Methanol u. a.) nicht und wird daher im Hochvakuum destilliert. Dabei gehen 2 g einer schwach-braunen Flüssigkeit über, die äußerst stark zu Tränen reizt. Sie wird noch zweimal im gewöhnlichen Vakuum destilliert, wobei sie bei 14 mm Druck und 80—85° übergeht. Beim Zusatz von Br_2 findet keine Entfärbung statt; die Substanz ist also gegen Brom gesättigt. Sie erstarrt auch bei —20° nicht.

Analyse: 4,971 mg Subst. — 2,970 mg CO_2; 0,800 mg H_2O. 3,134 mg Substanz — 2,323 mg Br_2.

OCH_3-Bestimmung: völlig negativ.

Ber. für $C_3H_4OBr_2$:	C = 16,7	H = 1,85	Br = 41,1.
Gef.	C = 16,3	H = 1,8	Br = 74,1.

c) Zu einer Lösung von 3 g Acetylrhetinsäure in 30 ccm $CHCl_3$ wird eine Lösung von 1 g Brom in 50 ccm CCl_4 tropfenweise hinzugegeben. Schon bei dem ersten Tropfen findet keine Entfärbung statt. Nach einer Stunde beginnen lange Nadeln auszukristallisieren, deren Menge im Eisschrank noch beträchtlich zunimmt. F = 310°; Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial: F = 312°.

Daß keine Einwirkung stattgefunden hat, wird eindeutig bewiesen durch die qualitative Bromprobe mit CaO, die völlig negativ ist.

5. Gynolactose.

Da die Anreicherung des Zuckers im Milchserum bereits im allgemeinen Teil beschrieben worden ist, seien hier nur die verschiedenen Versuche geschildert, die zur Gewinnung kristallisierter Derivate aus den vorliegenden sirupösen Gemischen führen sollten.

a) Acetylierung.

10 g eines linksdrehenden Präparates von der Drehung $[\alpha]_D^{19} = -7{,}5^0$ werden mit 60 ccm Essigsäureanhydrid und 30 ccm Pyridin vorsichtig erwärmt. Bis auf wenige Flocken geht alles in Lösung. Aufsieden unter tiefer Bräunung. Beim Eingießen in Wasser erhält man ein körniges, graues Produkt, welches in Chloroform, Benzol, Dioxan und heißem Alkohol gut löslich ist, aus letzterem jedoch in Schmieren wieder ausfällt. Daher wird die gesamte Masse in $CHCl_3$ gelöst und mit Petroläther bis zur Entfärbung der Flüssigkeit gefällt. Das Filtrat wird auf dem Wasserbad auf ein kleines Volumen eingeengt und der gelbe Rückstand in absolutem Alkohol gelöst, mit Tierkohle aufgekocht und filtriert. Nach sechs Tagen beginnt die Kristallisation. Aus Alkohol zweimal umkristallisiert. Tafeln. F = 94—98°. Drehung: 54,3 mg in 2 ccm Dioxan, 2 dm-Rohr; $\alpha = -0{,}11^0$, $[\alpha]_D^{22} = -2{,}03^0$. Ausbeute: 2 g.

Zum Vergleich wurden 5 g Lactose sowohl nach der eben angeführten Methode als auch nach der von Schmöger[29]) beschriebenen acetyliert. Nach dem Umkristallisieren aus Alkohol ist der Schmelzpunkt in beiden Fällen: F = 94—96°. Drehung: 466,3 mg in 5 ccm Dioxan, 2 dm-Rohr; $\alpha = +0{,}55^0$, $[\alpha]_D = +2{,}95^0$. (Die in der Literatur beschriebene Verschiedenheit der beiden nach den angeführten Methoden erhaltenen Lactoseoctaacetaten besteht also nicht.)

Da der Vergleich der optischen Aktivität die Möglichkeit ergab, daß im ersten Versuch tatsächlich ein Acetylierungsprodukt der Gynolactose vorlag, wurde aus dem linksdrehenden Kristallisat durch Verseifung nach Zemplén[30]) der Zucker in Freiheit gesetzt: 0,8 g wurden in 6 ccm $CHCl_3$ gelöst und 5 ccm einer Lösung hinzugesetzt, die aus 1 g Natrium und 50 ccm wasserfreien Methanols hergestellt war. In der Kältemischung (—20°) erstarrte die Reaktionsmasse beim häufigen Umschütteln gelatinös. Es wird mit 4,3 ccm n-Schwefelsäure neutralisiert und die wässrig-alkoholische Schicht abgetrennt. Sie liefert beim Eindunsten im Vakuumexsikkator 0,025 g Kristalle. Nach dem Umkristallisieren aus CH_3OH-haltigem Wasser farblose Tafeln. F = 208°. Mischprobe mit Lactose: F = 208°. Drehung: 82,8 mg in 5ccm Wasser; 2 dm-Rohr. Mutarotation. (Nach 24 Stunden) $\alpha = +1{,}69^0$; $[\alpha]_D^{24} = +51^0$.

Die fraktionierte Fällung mit Petroläther hatte also vorwiegend die α—Acetyllactose aus der Lösung ausgeschieden. Die im Überschuß in Lösung gebliebene β-Verbindung hatte dann die Linksdrehung erzeugt.

b) Osazonbildung.

1 g eines linksdrehenden Milchzuckerpräparates ($[\alpha]_D = -12^0$) wird mit 3 g p-Bromphenylhydrazin in 20 ccm 33%iger Essigsäure eine Stunde auf dem Wasserbad digeriert. Im Eisschrank schwach gelbe Kristalle in

[29]) B 25, 1452 (1892); Hudson, u. Kunz Am. chem. soc. 47, 2052 (1925).
[30]) B 59, 1254 (1926).

einer großen Menge gallertiger Substanz. Aus H_2O umkristallisiert. F = 166°. Ausbeute: 200 mg. Drehung: 0°.

Analyse: 3,115 mg Substanz — 0,327 ccm N, 25°, 747 mm.
3,061 mg Substanz — 1,048 mg Br.

Ber. für $C_8H_{11}O_2N_2Br$: N = 12,1 % Br = 34,5 %. (Acetylhydrazid)
Gef. N = 11,8 % Br = 34,2 %.

Es liegt also das Bromphenylhydrazid der Essigsäure vor.

c) Vergärungsversuche.

A. 0,2 g Gynolactose in 20 ccm (H_2O + Phosphatpuffer) gelöst. Dazu 1 g Sacharomyces fragilis. Anfangsdrehung: $\alpha = -0{,}10°$ (2 dm). Nach 24 h: $\alpha = -0{,}33°$.
Entstanden sind 4,8 ccm CO_2. Reduktionsprobe: +

B. 0,2 g Lactose werden, wie unter A. beschrieben, zur Gärung angesetzt. Anfangsdrehung: $\alpha = \pm 0{,}52°$. Enddrehung: 0. Gebildetes CO_2 : 22,8 ccm.

C. Zu der reinen Pufferlösung wird 1 g Milchzuckerhefe zugesetzt und die Aufschwemmung während 24 h sich selbst überlassen. Es entstehen 0,4 ccm CO_2. Anfangs- und Enddrehung: 0.

Da die Versuche klar ergeben, daß die Gynolactose unvergoren bleibt, werden 50 g eines linksdrehenden Sirups in der gleichen Weise behandelt. Das Gärgut wird zentrifugiert und die überstehende Lösung im Vakuum auf ein kleines Volumen eingeengt. Der so erhaltene Sirup wird mit der 10 fachen Menge 80%igen Alkohols versetzt; dabei fällt ein klebriger Bodensatz aus. Die Flüssigkeit wird erneut eingeengt, dann genau auf 100 ccm aufgefüllt und 1 ccm dieser Stammlösung nach Willstätter-Schudel[31]) titriert. Daraus läßt sich der Biosegehalt der Lösung errechnen. Die gleichzeitige polarimetrische Bestimmung erlaubt, die spezifische Drehung des linksdrehenden Zuckers wenigstens angenähert anzugeben: $[\alpha]_D^{18} = -34°$.

Oxydation zur Bionsäure:

Die Stammlösung enthält 7,5 g Biose. Diese werden mit 200 ccm einer Lösung versetzt, die 22,5 g BaJ_2 und 11,5 g J_2 enthält. Unter energischem Rühren werden aus einem Tropftrichter 400 ccm einer 0,4 n –$Ba(OH)_2$ während 15 Minuten zugegeben. Dann wird mit verdünnter H_2SO_4 angesäuert und sofort soviel feingepulvertes $PbCO_3$ zugefügt, daß die Reaktion gegen Congo neutral wird.

Das Filtrat wird im Vakuum eingeengt, vom ausgeschiedenen PbJ_2 abgegossen, mit H_2SO_4 bis zur schwach sauren Reaktion versetzt und mit einer geringen Menge Ag_2SO_4 geschüttelt. Nach dem Durchleiten von H_2S wird mit $BaCO_3$ vorsichtig erwärmt, bis die Lösung neutral reagiert.

[31]) B 51, 780 (1918).

Die abgegossene Flüssigkeit wird erneut eingedampft und mit der 6fachen Menge Alkohol gefällt. Gewöhnlich erhält man zunächst eine Schmiere, die aber beim Verreiben mit Alkohol zu einem schön weißen Pulver erstarrt. Zur Reinigung wird noch zweimal umgefällt. Ausbeute: 7 g.
Drehung: 0,1837 g in 2 ccm H_2O; 2 dm-Rohr. $\alpha = -6{,}12^0$, $[\alpha]_D^{20} = -33^0$
Reduktionsprobe: negativ; nach 5 sec.-langem Kochen mit HCl: stark positiv.
Ba-Gehalt des Salzes: 0,1483 g geben 33,4 mg $BaSO_4 = 81\,\%$ d. Th.

Je 0,2 g des gynolactobionsauren Ba werden mit der berechneten Menge H_2SO_4 versetzt, und das Filtrat mit einem geringen Überschuß der folgenden Alkaloide eine halbe Stunde auf dem Wasserbad erwärmt: Cinchonin, Cinchonidin, Morphin, Strychnin und Brucin. Nur aus den letzten beiden Ansätzen erhielt ich beim Einengen zum Sirup seidenglänzende Nadeln, die sich jedoch in keinerlei Weise von den anhaftenden Schmieren befreien ließen. Die Alkaloidsalze sind in Wasser spielend, in allen anderen Solventien unlöslich, so daß als einziger Weg zur Reinigung das Fällen aus wässriger Lösung übrig bleibt. Das so erhaltene Strychninsalz war nicht deutlich kristallin, zeigte eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D = -44^0$ und stimmte in seinen Analysenwerten nur sehr schlecht auf die Formel des bionsauren Strychnins. Daher wurde die Spaltung an dem direkt erhaltenen bionsauren Ba durchgeführt.

5 g Ba-Bionat werden mit 100 ccm 3%iger H_2SO_4 5 h am Rückflußkühler gekocht. Es tritt Schwarzfärbung ein. Nach dem Neutralisieren mit $BaCO_3$ wird die Lösung mit Tierkohle aufgekocht und filtriert. Man engt im Vakuum ein und fällt mit der doppelten Menge 99%igen Alkohols.

a) In der Lösung bleibt die Monose. Eine Hälfte der Lösung wird mit 0,5 g p-Bromphenylhydrazin und 5 ccm 33%iger Essigsäure 1 h auf dem Wasserbad gekocht. Im Eisschrank gelbe Nadeln, die aus 50%igem Alkohol umkristallisiert werden. Ausbeute: 100 mg. $F = 178^0$.

Zum Vergleich werden 0,5 g Galactose in derselben Weise in das Osazon übergeführt. Schmelzpunkt: 183—184°. Mischprobe mit dem ersten Osazon: 182°. Dieses Galactose-p-Bromphenylosazon läßt sich besonders schön aus viel Wasser und wenig Pyridin in zentimeterlangen Nadeln gewinnen und zeigt dann einen Schmelzpunkt von 194°. Drehung: 71,7 mg in 5 ccm Dioxan (durch halbstündiges Erhitzen auf dem Wasserbad in Lösung gebracht). 1 dm-Rohr. $\alpha = +0{,}65^0 \rightarrow -0{,}34^0$. Enddrehung: $[\alpha] = +23{,}7^0$. Analyse: 3,003 mg Substanz — 0,282 ccm N (23°; 758 mm Hg)
Ber.: N = 8,02 Gef.: N = 8,1.

Die zweite Hälfte der galactosehaltigen Lösung wird mit 10 ccm verdünnter HNO_3 auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft. Weiße Kristalle. F = 220°. Mischprobe mit Schleimsäure: 221—222°.

b) Die Alkoholfällung enthält das Ba-Salz einer Onsäure. Zur Reinigung von anhaftender Galactose wird noch zweimal umgefällt. Ausbeute:

0,3 g. Drehung: 0,1504 g in 2 ccm H_2O; 1 dm-Rohr. $\alpha = +0{,}56^0$, $[\alpha]_D^{20} = +7{,}5^0$.

Da in Analogie zur Allolactose und zur Lactose angenommen wurde, daß es sich um Glukonsäure handelt, versuchte ich zunächst die Darstellung des Phenylhydrazids in essigsaurer Lösung; außer dem Essigsäurephenylhydrazid ließ sich kein kristallisiertes Produkt herausarbeiten.

Daher wurde die Darstellung des Brucinsalzes versucht. 0,4 g onsaures Ba wurden mit der berechneten Menge H_2SO_4 versetzt und das Filtrat mit 0,2 g Brucin erwärmt. Auch hier wurde kein kristallisiertes Alkaloidsalz erhalten. Nur durch Fällung mit Alkohol ließ sich der Brucinkörper isolieren; die Verbindung zersetzt sich bei etwa 110 °.

Lebenslauf.

Am 17. August 1908 wurde ich, Felix Bergmann, als Sohn des Rabbiners Dr. J. Bergmann in Frankfurt a. d. Oder geboren. Ich bin Jude. Von Ostern 1915 an besuchte ich das Mommsengymnasium in Berlin, wo ich im März 1927 das Abiturium bestand. Im Sommersemester 1927 begann ich, an der Universität zu Berlin Chemie und gleichzeitig Medizin zu studieren.

An der Philosophischen Fakultät besuchte ich die Vorlesungen und Übungen der Herren Dozenten: Schlenck, Nernst, P. Pringheim, Bodenstein, Bergmann, Kniep, Hesse, Spranger und van de Kerkhoven.

Vorliegende Arbeit wurde im Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, Dahlem, in der Zeit vom Januar 1931 bis April 1932 auf Anregung von Herrn Prof. Dr. C. Neuberg ausgeführt. Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, möchte ich für die wertvollen Ratschläge bei meiner Arbeit und die stete Anregung zu wissenschaftlichem Denken meinen herzlichsten Dank aussprechen.